

# INTERNATIONAL COOPERATION TREATY

PCT

## NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

Assistant Commissioner for Patents  
United States Patent and Trademark  
Office  
Box PCT  
Washington, D.C.20231  
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

in its capacity as elected Office

<b>Date of mailing (day/month/year)</b> 16 August 2000 (16.08.00)	
<b>International application No.</b> PCT/EP99/10460	<b>Applicant's or agent's file reference</b> EP-1006/PCT
<b>International filing date (day/month/year)</b> 29 December 1999 (29.12.99)	<b>Priority date (day/month/year)</b> 30 December 1998 (30.12.98)
<b>Applicant</b> SIPPEL, Albrecht, E. et al	

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

☒ in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:  
26 July 2000 (26.07.00)

☐ in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:

2. The election ☒ was

☐ was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

**BEST AVAILABLE COPY**

<b>The International Bureau of WIPO</b> 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	<b>Authorized officer</b>  S. Mafla
Facsimile No.: (41-22) 740.14.35	Telephone No.: (41-22) 338.83.38

**PCT**

**NOTIFICATION OF THE RECORDING  
 OF A CHANGE**

(PCT Rule 92bis.1 and  
 Administrative Instructions, Section 422)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

GÖTTE, Anna  
 Scharnitzer Strasse 42  
 821166 Gräfelfing  
 ALLEMAGNE

Date of mailing (day/month/year) 09 January 2001 (09.01.01)	<b>IMPORTANT NOTIFICATION</b>
Applicant's or agent's file reference EP-1006/PCT	
International application No. PCT/EP99/10460	International filing date (day/month/year) 29 December 1999 (29.12.99)

1. The following indications appeared on record concerning:	
<input type="checkbox"/> the applicant	<input type="checkbox"/> the inventor <input checked="" type="checkbox"/> the agent <input type="checkbox"/> the common representative
Name and Address GÖTTE, Anna Friedhofstrasse 28 D-47877 Willich Germany	State of Nationality
	State of Residence
	Telephone No. +49-2154-205091
	Facsimile No. +49-2154-205092
2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:	
<input type="checkbox"/> the person <input type="checkbox"/> the name <input checked="" type="checkbox"/> the address <input type="checkbox"/> the nationality <input type="checkbox"/> the residence	
Name and Address GÖTTE, Anna Scharnitzer Strasse 42 821166 Gräfelfing Germany	State of Nationality
	State of Residence
	Telephone No. +49-89-89868600
	Facsimile No. +49-89-89868601
3. Further observations, if necessary:	
4. A copy of this notification has been sent to:	
<input checked="" type="checkbox"/> the receiving Office	<input type="checkbox"/> the designated Offices concerned
<input type="checkbox"/> the International Searching Authority	<input checked="" type="checkbox"/> the elected Offices concerned
<input checked="" type="checkbox"/> the International Preliminary Examining Authority	<input type="checkbox"/> other:

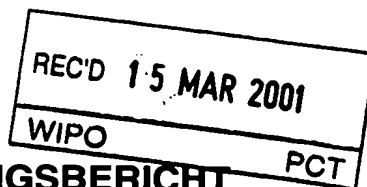
The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer  Ingrid Aulich
Facsimile No.: (41-22) 740.14.35	Telephone No.: (41-22) 338.83.38

VERTRAG ÜBER INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM  
GEBIET DES PATENTWESENS

PCT

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

(Artikel 36 und Regel 70 PCT)





Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts EP-1006/PCT	<b>WEITERES VORGEHEN</b> siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsberichts (Formblatt PCT/IPEA/416)	
Internationales Aktenzeichen PCT/EP99/10460	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 29/12/1999	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 30/12/1998
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK G01N33/566		
Anmelder SIPPEL, Albrecht, E. et al.		

- Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.
- Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 6 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.  
  
☒ Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).  
  
 Diese Anlagen umfassen insgesamt 22 Blätter.

3. Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:

- I ☒ Grundlage des Berichts
- II ☐ Priorität
- III ☐ Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
- IV ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
- V ☒ Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
- VI ☐ Bestimmte angeführte Unterlagen
- VII ☒ Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
- VIII ☒ Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Datum der Einreichung des Antrags  26/07/2000	Datum der Fertigstellung dieses Berichts  09.03.2001
Name und Postanschrift der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde:   Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Bevollmächtigter Bediensteter  Hoesel, H  Tel. Nr. +49 89 2399 8693  

**I. Grundlag des Berichts**

1. Dieser Bericht wurde erstellt auf der Grundlage (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigelegt, weil sie keine Änderungen enthalten.*):

**Beschreibung, Seiten:**

1-73 ursprüngliche Fassung

**Patentansprüche, Nr.:**

1-58 eingereicht mit dem Antrag

61-70 eingegangen am 12/02/2001 mit Schreiben vom 07/02/2001

59,60 mit Telefax vom 21/02/2001

**Zeichnungen, Blätter:**

1/4-4/4 ursprüngliche Fassung

2. Hinsichtlich der **Sprache**: Alle vorstehend genannten Bestandteile standen der Behörde in der Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht worden ist, zur Verfügung oder wurden in dieser eingereicht, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

Die Bestandteile standen der Behörde in der Sprache: zur Verfügung bzw. wurden in dieser Sprache eingereicht; dabei handelt es sich um

- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen Recherche eingereicht worden ist (nach Regel 23.1(b)).
- ☐ die Veröffentlichungssprache der internationalen Anmeldung (nach Regel 48.3(b)).
- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung eingereicht worden ist (nach Regel 55.2 und/oder 55.3).

3. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale vorläufige Prüfung auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das:

- ☐ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.
- ☐ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.

- ☐ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfassten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

4. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

- ☐ Beschreibung,      Seiten:  
☐ Ansprüche,      Nr.:  
☐ Zeichnungen,      Blatt:

5. ☐ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)).

*(Auf Ersatzblätter, die solche Änderungen enthalten, ist unter Punkt 1 hinzuweisen; sie sind diesem Bericht beizufügen).*

6. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

**V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung**

1. Feststellung

Neuheit (N)	Ja: Ansprüche	1 - 70
	Nein: Ansprüche	
Erfinderische Tätigkeit (ET)	Ja: Ansprüche	1 - 70
	Nein: Ansprüche	
Gewerbliche Anwendbarkeit (GA)	Ja: Ansprüche	1 - 70
	Nein: Ansprüche	

2. Unterlagen und Erklärungen  
**siehe Beiblatt**

**VII. Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung**

Es wurde festgestellt, daß die internationale Anmeldung nach Form oder Inhalt folgende Mängel aufweist:  
**siehe Beiblatt**

**VIII. Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung**

Zur Klarheit der Patentansprüche, der Beschreibung und der Zeichnungen oder zu der Frage, ob die Ansprüche in vollem Umfang durch die Beschreibung gestützt werden, ist folgendes zu bemerken:  
**siehe Beiblatt**

Es wird auf die folgenden Dokumente verwiesen:

D1: EP-A-0 863 214

D2: WO-A-94/29458

D3: WO-A-98/26054

**Zu Punkt V**

**Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung**

1. Rekombinante Zellen, die ein ras-Signal aktivierendes Effektorprotein in Form eines Fusionskonstrukts, d.h. gebunden an ein die intrazelluläre Bindung an einen Membranrezeptor vermittelndes Adaptorprotein, sowie den dazu passenden Membranrezeptor exprimieren, sind im Stand der Technik gemäß des internationalen Recherchenberichts weder vorbeschrieben noch nahegelegt.

Der Gegenstand der Ansprüche 1 - 34 und sowie der Ansprüche 60/63 wird somit für neu und erfinderisch im Sinne der Artikel 33(2) und (3) PCT erachtet.

Screeningmethoden, die auf der Verwendung derartiger Zelllinien beruhen, ermöglichen eine Identifikation von beliebigen Rezeptor(ant)agonisten auf Basis des Nachweises der Ras-Aktivierung.

Daher werden auch die Verfahren gemäß der Ansprüche 35 - 59 und 70, als neu und erfinderisch angesehen (Art. 33(2) und (3) PCT).

2. Die unabhängigen Ansprüche 61, 62, 64, 65 erstrecken sich auf verschiedene Ausführungsarten von Testkits, die hinsichtlich ihrer essentiellen Bestandteile (a) und (b) nicht durch den obengenannten Stand der Technik vorbeschrieben oder nahegelegt sind.

Die Ansprüche 61, 62, 64 - 69 erfüllen somit ebenfalls die Erfordernisse der Art. 33(2) und (3) PCT (siehe jedoch Sektion VIII, Punkt 6).

**Zu Punkt VII**

**Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung**

3. Die Beschreibung steht nicht, wie in Regel 5.1 a) iii) PCT vorgeschrieben, in Einklang mit den geänderten Ansprüchen.

**Zu Punkt VIII**

**Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung**

4. Die Ansprüche 35, 38, 42, 43, 46, 47, 48, 51, 55, 56, 59, 70 und 61, 62, 64, 65 wurden zwar als getrennte, unabhängige Ansprüche abgefaßt, sie scheinen sich aber tatsächlich auf ein und denselben Gegenstand zu beziehen und sich voneinander nur durch voneinander abweichende Definitionen des Gegenstandes, für den Schutz begehrt zu unterscheiden oder jeweils alle Merkmale eines vorgeordneten Anspruchs zu enthalten (d.i. inhaltlich abhängig zu sein).

Somit sind die Ansprüche nicht knapp gefaßt. Ferner mangelt es den Ansprüchen insgesamt an Klarheit, da es aufgrund der Vielzahl unabhängiger Ansprüche schwierig, wenn nicht unmöglich ist, den Gegenstand des Schutzbegehrens zu ermitteln, und damit Dritten die Feststellung des Schutzzumfangs in unzumutbarer Weise erschwert wird.

Aus diesem Grund erfüllt der Anspruchssatz nicht die Erfordernisse des Artikels 6 PCT.

5. Die unabhängigen Ansprüche sind unklar hinsichtlich des Wortlauts "ras-ähnlicher Signalweg". Aus den Ansprüchen ist nicht zu entnehmen, welche Kriterien, sprich welche funktionellen oder strukturellen Gemeinsamkeiten eine ras-Ähnlichkeit begründen, und folglich welche Proteine als geeignete Effektorproteine im Sinne des Anspruchswortlauts in Frage kommen. Unklarheit resultiert insbesondere aus dem Umstand, daß laut der Beschreibung (s. z.B. S. 40, Z. 5 - 12) der Begriff "ras-ähnlich" weit allgemeiner als in der Fachwelt akzeptiert, interpretiert zu sein scheint. Eine von der in der Fachwelt akzeptierten Definition abweichende

Interpretation müßte zur Klarstellung in den Anspruch aufgenommen werden (PCT-Richtlinien, Section IV, Ch III-4.5 und Ch III-4.2).

6. Die Ansprüche 61, 62, 64, 65 erstrecken sich auf Testkits, die lediglich die Komponenten (a) und (b) als essentielle Bestandteile enthalten.

Gemäß des geänderten Anspruchs 1 besteht der erfindungswesentliche Aspekt in dem Einsatz eines "Hybrid-Effektorproteins" in Form eines Fusionskonstrukts enthaltend einen ras-Effektor und ein Adaptorprotein, das die Bindung des Effektors an den Membranrezeptor vermittelt. Komponente (c) wäre demgemäß als essentieller Bestandteil eines speziell für das erfindungsgemäße Verfahren angepaßten Test Kits zu betrachten.

Da die unabhängigen Ansprüche 61, 62, 64 und 65 diese Komponente lediglich als fakultativen Bestandteil nennen, entsprechen sie nicht den Erfordernissen von Artikel 6 PCT in Verbindung mit Regel 6.3 b) PCT, gemäß derer jeder unabhängige Anspruch alle technischen Merkmale enthalten muß, die für die Definition der Erfindung wesentlich sind.



NEUE PATENTANSPRÜCHE

1. Zelle, umfassend einen Membranrezeptor, der einen Ligandenbindungsabschnitt, ein Membranlokalisierungssignal und einen Mediatorabschnitt umfaßt, wobei nur bei Bindung oder, alternativ, nur bei fehlender Bindung eines Liganden an den Ligandenbindungsabschnitt eine Strukturänderung mit Auswirkungen auf den Mediatorabschnitt bewirkt wird, so daß in der Folge ein Effektorprotein oder -polypeptid, das in der Lage ist, einen Ras- oder Ras-ähnlichen Signalweg in der Zelle zu aktivieren, an eine Komponente der Membran, gegebenenfalls über weitere Proteine oder Polypeptide (Adaptoren), bindet, dadurch gekennzeichnet, daß das Effektorprotein oder -polypeptid, das in der Lage ist, einen Ras- oder Ras-ähnlichen Signalweg zu aktivieren, in Form eines Fusionsproteins eines Effektorabschnitts mit einem Adaptorprotein oder -polypeptid, das die Bindung an die Komponente der Membran, gegebenenfalls über weitere Proteine oder Polypeptide (Adaptoren), ermöglicht, vorliegt.
2. Zelle nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß der Effektorabschnitt, der in der Lage ist, einen Ras- oder Ras-ähnlichen Signalweg zu aktivieren, ein Guanine Nucleotide Exchange Factor (GEF) oder ein aktives Protein aus der Ras-Familie ist.
3. Zelle nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß der Effektorabschnitt, der in der Lage ist, einen Ras- oder Ras-ähnlichen Signalweg zu aktivieren, das CDC25-Protein aus *Saccharomyces cerevisiae* ist oder von einem solchen Protein abgeleitet ist.
4. Zelle nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß der Effektorabschnitt, der in der Lage ist, einen Ras- oder Ras-

ähnlichen Signalweg zu aktivieren, ein SOS-Protein aus einem Säugetier oder ein SOS-ähnliches Protein aus einem beliebigen Organismus ist oder von einem solchen Protein abgeleitet ist.

5. Zelle nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß das Fusionsprotein einer enzymatischen Modifizierung bedarf, bevor es an die Komponente der Membran, gegebenenfalls über weitere Proteine oder Polypeptide (Adaptoren), gebunden werden kann und daß eine für die enzymatische Modifizierung erforderliche enzymatische Aktivität nur aufgrund einer Ligandenbindung oder, alternativ, fehlenden Ligandenbindung an den Ligandenbindungsabschnitt aktiviert wird.
6. Zelle nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß der Membranrezeptor ein Transmembranrezeptor, ein Enzym-gekoppelter Rezeptor, ein G-Protein-gekoppelter Rezeptor, ein 7-Transmembranrezeptor oder ein Geruchsrezeptor ("Odour Receptor" oder "Olfactorial Receptor") ist.
7. Zelle nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß der Membranrezeptor ein in der Natur nicht vorkommender, synthetischer Membranrezeptor ist.
8. Zelle nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, daß der Ligandenbindungsabschnitt von einem Ligandenbindungsabschnitt eines in der Natur vorkommenden Rezeptors abgeleitet ist.
9. Zelle nach einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß der Ligandenbindungsabschnitt den Ligandenbindungsabschnitt eines Transmembranrezeptors, eines G-Protein-gekoppelten Rezeptors, eines 7-Transmembranrezeptors, eines Geruchsrezeptors ("Odour Receptor" oder "Olfactorial Receptor") oder eines nukleären Rezeptors umfaßt oder von diesem abstammt.
10. Zelle nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, daß der Ligandenbindungsabschnitt von einem Ligandenbindungsabschnitt

eines in der Natur vorkommenden Rezeptors, und insbesondere von dem Ligandenbindungsabschnitt eines Transmembranrezeptors, eines G-Protein-gekoppelten Rezeptors, eines 7-Transmembranrezeptors, eines Geruchsrezeptors ("Odour Receptor" oder "Olfactorial Receptor") oder eines nukleären Rezeptors, durch Mutation, insbesondere durch Substitution, Deletion, Insertion und/oder Modifizierung einer oder mehrerer Aminosäuren oder Gruppen von Aminosäuren, abgeleitet oder ein durch "molecular modelling" erzeugter, synthetischer Ligandenbindungsabschnitt ist.

11. Zelle nach einem der Ansprüche 1 bis 10, dadurch gekennzeichnet, daß der Mediatorabschnitt den zytoplasmatischen Teil eines G-Protein-gekoppelten Rezeptors, Abschnitte davon oder eine davon abgeleitete Aminosäurefolge umfaßt.

12. Zelle nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, daß das Effektorprotein oder -polypeptid, das in der Lage ist, einen Ras- oder Ras-ähnlichen Signalweg in der Zelle zu aktivieren, in Form eines Fusionsproteins eines Effektorabschnitts mit einem Adaptorprotein vorliegt, das nach Abdissoziation der  $\alpha$ -Untereinheit des heterotrimeren G-Proteins mit den aufgrund dessen frei zugänglichen Bereichen der  $\beta$ - und  $\gamma$ -Untereinheiten des G-Proteins, die in Assoziation mit dem Mediatorabschnitt vorliegen, oder mit der  $\alpha$ -Untereinheit des heterotrimeren G-Proteins nach Abdissoziation von der  $\beta$ - und  $\gamma$ -Untereinheit des G-Proteins oder infolge der Dissoziation des heterotrimeren G-Proteins mit dem Mediatorabschnitt des Membranrezeptors wechselwirken kann.

13. Zelle nach Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, daß das Fusionsprotein einen Effektorabschnitt und eine GRK2-Kinase oder eine GRK3-Kinase umfaßt.

14. Zelle nach Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, daß das Fusionsprotein einen Effektorabschnitt und einen Antikörper,

der spezifisch die  $\beta$ - und  $\gamma$ -Untereinheiten des G-Proteins nach Abdissoziation der  $\alpha$ -Untereinheit erkennt und bindet, umfaßt.

15. Zelle nach einem der Ansprüche 12 bis 14, dadurch gekennzeichnet, daß der Effektorabschnitt des Fusionsproteins die Sequenz eines aktiven Ras-Proteins umfaßt.

16. Zelle nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, daß der Mediatorabschnitt den zytoplasmatischen Teil eines G-Protein-gekoppelten Rezeptors, Abschnitte davon oder eine davon abgeleitete Aminosäurefolge umfaßt, wobei das mit dem zytoplasmatischen Teil des G-Protein-gekoppelten Rezeptors wechselwirkende G-Protein in aktiviertem Zustand eine Phosphatidylinositol-3-kinase (PI3K) aktiviert.

17. Zelle nach Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, daß das Effektorprotein oder -polypeptid, das in der Lage ist, einen Ras- oder Ras-ähnlichen Signalweg in der Zelle zu aktivieren, in Form eines Fusionsproteins eines Effektorabschnitts mit einer "Src homology 2" (SH2)- oder einer "pleckstrin homology" (PH)-Domäne vorliegt.

18. Zelle nach einem der Ansprüche 1 bis 10, dadurch gekennzeichnet, daß der Mediatorabschnitt infolge der Ligandenbindung oder, alternativ, fehlenden Ligandenbindung an den Ligandenbindungsabschnitt in der Lage ist, ein oder mehrere Adaptorproteine zu binden, über welche das Effektorprotein oder -polypeptid, das in der Lage ist, einen Ras- oder Ras-ähnlichen Signalweg in der Zelle zu aktivieren, in Form eines Fusionsproteins eines Effektorabschnitts mit einem Adaptorprotein- oder -polypeptidabschnitt, der die Bindung an die Komponente der Membran über eines oder mehrere der Adaptorproteine ermöglicht, an den Mediatorabschnitt binden kann.

19. Zelle nach Anspruch 18, dadurch gekennzeichnet, daß der Mediatorabschnitt infolge einer Ligandenbindung oder, alternativ, fehlenden Ligandenbindung an den Ligandenbindungsab-

schnitt in die Lage versetzt wird, eine enzymatische Aktivität auszuüben.

20. Zelle nach Anspruch 19, dadurch gekennzeichnet, daß der Mediatorabschnitt infolge einer Ligandenbindung oder, alternativ, fehlenden Ligandenbindung an den Ligandenbindungsabschnitt in die Lage versetzt wird, eine Tyrosinkinaseaktivität, eine Serin/Threoninkinase- oder Phosphataseaktivität auszuüben.

21. Zelle nach Anspruch 20, dadurch gekennzeichnet, daß der Mediatorabschnitt den cytoplasmatischen Teil des EGFR ("epidermal growth factor receptor") umfaßt oder von diesem abstammt.

22. Zelle nach Anspruch 18, dadurch gekennzeichnet, daß der Ligandenbindungsabschnitt infolge einer Bindung oder, alternativ, fehlenden Bindung eines Liganden für diesen Ligandenbindungsabschnitt in die Lage versetzt wird, ein separates, receptorspezifisches Enzym zu aktivieren.

23. Zelle nach Anspruch 22, dadurch gekennzeichnet, daß das separate, receptorspezifische Enzym heterolog zu der Zelle ist.

24. Zelle nach Anspruch 22 oder 23, dadurch gekennzeichnet, daß das separate receptorspezifische Enzym eine Kinase und insbesondere eine Tyrosinkinase ist.

25. Zelle nach einem der Ansprüche 18 bis 24, dadurch gekennzeichnet, daß von dem Mediatorabschnitt infolge der Ligandenbindung oder, alternativ, fehlenden Ligandenbindung an den Ligandenbindungsabschnitt die Adaptorproteine Gbr2 oder Shc gebunden werden können.

26. Zelle nach einem der Ansprüche 1 bis 25, dadurch gekennzeichnet, daß die Zelle eine prokaryotische oder eukaryotische Zelle ist.

27. Zelle nach Anspruch 26, dadurch gekennzeichnet, daß die Zelle eine eukaryotische Zelle und insbesondere eine Hefezelle, speziell eine zellwandlose Hefezelle ist.

28. Zelle nach einem der Ansprüche 1 bis 27, dadurch gekennzeichnet, daß sie auf einem festen Träger aufgebracht ist.

29. Zelle nach Anspruch 28, dadurch gekennzeichnet, daß die Zelle auf Biochips immobilisiert oder in Mikroammern eingeschlossen ist.

30. Zelle nach einem der Ansprüche 1 bis 29, dadurch gekennzeichnet, daß bei Fehlen des Membranrezeptors zumindest unter bestimmten Bedingungen ein Ras- oder Ras-ähnlicher Signalweg in der Zelle nicht aktiviert werden kann.

31. Zelle nach Anspruch 30, dadurch gekennzeichnet, daß die Aktivierbarkeit des Ras- oder Ras-ähnlichen Signalwegs bei Fehlen des Membranrezeptors temperaturabhängig ist.

32. Zelle nach Anspruch 31, dadurch gekennzeichnet, daß die fehlende Aktivierbarkeit des Ras- oder Ras-ähnlichen Signalwegs bei Fehlen des Membranrezeptors oberhalb einer bestimmten Temperatur auf zumindest einer Mutation eines zelleigenen Guanine Nucleotide Exchange Factors beruht, welche bewirkt, daß dieser oberhalb der bestimmten Temperatur funktionsunfähig wird.

33. Zelle nach Anspruch 32, dadurch gekennzeichnet, daß die Zellen des *Saccharomyces cerevisiae*-Hefestamms cdc25-2 sind oder davon abgeleitet sind.

34. Zelle nach Anspruch 31 oder 32, dadurch gekennzeichnet, daß die fehlende Aktivierbarkeit des Ras- oder Ras-ähnlichen Signalwegs bei Fehlen des Membranrezeptors oberhalb einer bestimmten Temperatur auf zumindest einer Mutation eines zelleigenen Ras-Proteins beruht, welche bewirkt, daß dieses oberhalb der bestimmten Temperatur funktionsunfähig wird.

35. *in vivo*-Assay zur Bestimmung der Eignung einer Testsubstanz als Ligand für einen Ligandenbindungsabschnitt eines Rezeptors, gekennzeichnet durch die folgenden Schritte:

(a) Inkontaktbringen der Testsubstanz mit Zellen nach einem der Ansprüche 30 - 34 unter Bedingungen, bei denen bei Fehlen des Membranrezeptors der Ras- oder Ras-ähnliche Signalweg in der Zelle nicht aktiviert werden kann, wobei der Membranrezeptor den genannten Ligandenbindungsabschnitt enthält und das Effektorprotein oder -polypeptid, dessen Bindung an eine Membrankomponente von der Bindung eines Liganden an den Ligandenbindungsabschnitt des Membranrezeptors, wie in Anspruch 1 definiert, abhängig ist, in der Lage ist, diesen Ras- oder Ras-ähnlichen Signalweg zu aktivieren,

(b) Untersuchen, ob eine Aktivierung des Ras- oder Ras-ähnlichen Signalwegs erfolgt ist, wobei ein Nachweis der Aktivierung des Ras- oder Ras-ähnlichen Signalwegs die Bindungsfähigkeit der Testsubstanz an den Ligandenbindungsabschnitt anzeigt.

36. Assay nach Anspruch 35, wobei Schritt (b) umfaßt, die Aktivierung des Ras- oder Ras-ähnlichen Signalwegs über die gegebenenfalls erfolgende Expression eines Reportergens, die nur aufgrund der infolge der Aktivierung des Ras- oder Ras-ähnlichen Signalwegs erfolgenden Aktivierung eines spezifischen Transkriptionsfaktors erfolgt, nachzuweisen, wobei der Nachweis der Expression des Reportergens die Bindungsfähigkeit der Testsubstanz an den Ligandenbindungsabschnitt anzeigt.

37. Assay nach Anspruch 35, wobei in Schritt (a) Zellen, bei denen der inaktive bzw. inaktivierbare Ras- oder Ras-ähnliche

Signalweg ein Signalweg ist, der auf den Zellzyklus einwirkt und dessen Aktivierung für die Zellvermehrung essenziell ist, eingesetzt werden und Schritt (b) umfaßt, zu untersuchen, ob die Zellen unter den genannten Bedingungen vermehrungsfähig sind, wobei ein Nachweis der Vermehrungsfähigkeit der Zellen die Bindungsfähigkeit der Testsubstanz an den Ligandenbindungsabschnitt anzeigt.

38. *in vivo*-Assay zur Bestimmung der Eignung einer Testsubstanz als Ligand für einen Ligandenbindungsabschnitt eines Rezeptors, gekennzeichnet durch die folgenden Schritte:

(a) Inkontaktbringen der Testsubstanz mit Zellen nach einem der Ansprüche 30 - 34 unter Bedingungen, bei denen bei Fehlen des Membranrezeptors der Ras- oder Ras-ähnliche Signalweg in der Zelle nicht aktiviert werden kann, wobei der Membranrezeptor den genannten Ligandenbindungsabschnitt enthält und das Effektorprotein oder -polypeptid, dessen Bindung an eine Membrankomponente von der fehlenden Bindung eines Liganden an den Ligandenbindungsabschnitt des Membranrezeptors, wie in Anspruch 1 definiert, abhängig ist, in der Lage ist, diesen Ras- oder Ras-ähnlichen Signalweg zu aktivieren,

(b) Untersuchen, ob eine Aktivierung des Ras- oder Ras-ähnlichen Signalwegs erfolgt ist,

(c) Untersuchen von Zellen, wie sie in Schritt (a) eingesetzt wurden, unter Bedingungen, bei denen bei Fehlen des Membranrezeptors der Ras- oder Ras-ähnliche Signalweg in der Zelle nicht aktiviert werden kann, in Abwesenheit der Testsubstanz auf Aktivierung des Ras- oder Ras-ähnlichen Signalwegs, wobei ein Nachweis der Aktivierung des Ras- oder Ras-ähnlichen Signalwegs in Abwesenheit der Testsubstanz und die Inaktivität des Ras- oder Ras-ähnlichen Signalwegs in Anwesenheit der Testsubstanz die Bindungsfähigkeit der Testsubstanz an den Ligandenbindungsabschnitt anzeigt.

39. Assay nach einem der Ansprüche 35 bis 38, dadurch gekennzeichnet, daß die Testsubstanz eine natürlich vorkommende Substanz und insbesondere ein Geruchsstoff, Geschmacksstoff, Pep-



tid, Peptidhormon, Protein, insb sondere Zytokin, Wachstumsfaktor, Neurotransmitter, nicht-prot in- oder -peptidartiges Hormon und/oder ein Vitamin ist.

40. Assay nach einem der Ansprüche 35 bis 38, dadurch gekennzeichnet, daß die Testsubstanz eine in der Natur nicht vorkommende Substanz und insbesondere ein synthetisches Derivat eines natürlichen Liganden oder ein Giftstoff, insbesondere Dioxin, ist.

41. Assay nach Anspruch 40, dadurch gekennzeichnet, daß die Testsubstanz als Fusionsprotein, umfassend eine mutmaßliche Ligandendomäne, eingesetzt wird.

42. Screeningverfahren nach unbekannten Liganden eines bestimmten Rezeptors, dadurch gekennzeichnet, daß für das Screening ein Assayverfahren nach einem der Ansprüche 35 bis 38 eingesetzt wird.

43. *in vivo*-Assay zum Nachweis der Anwesenheit eines Liganden für einen Ligandenbindungsabschnitt eines Rezeptors in einer Probe, die diesen möglicherweise enthält, gekennzeichnet durch die folgenden Schritte:

(a) Inkontaktbringen der Probe mit Zellen nach einem der Ansprüche 30 - 34 unter Bedingungen, bei denen bei Fehlen des Membranrezeptors der Ras- oder Ras-ähnliche Signalweg in der Zelle nicht aktiviert werden kann, wobei der Membranrezeptor den genannten Ligandenbindungsabschnitt enthält und das Effektorprotein oder -polypeptid, dessen Bindung an eine Membrankomponente von der Bindung eines Liganden an den Ligandenbindungsabschnitt des Membranrezeptors, wie in Anspruch 1 definiert, abhängig ist, in der Lage ist, diesen Ras- oder Ras-ähnlichen Signalweg zu aktivieren,

(b) Untersuchen, ob eine Aktivierung des Ras- oder Ras-ähnlichen Signalwegs erfolgt ist,

wobei ein Nachweis der Aktivierung des Ras- oder Ras-ähnlichen Signalwegs die Anwesenheit eines Liganden für den Ligandenbindungsabschnitt eines Rezeptors in der Probe anzeigt.

44. Assay nach Anspruch 43, wobei Schritt (b) umfaßt, die Aktivierung des Ras- oder Ras-ähnlichen Signalwegs über die gegebenenfalls erfolgende Expression eines Reportergens, die nur aufgrund der infolge der Aktivierung des Ras- oder Ras-ähnlichen Signalwegs erfolgenden Aktivierung eines spezifischen Transkriptionsfaktors erfolgt, nachzuweisen, wobei der Nachweis der Expression des Reportergens die Anwesenheit eines Liganden für den Ligandenbindungsabschnitt eines Rezeptors in der Probe anzeigt.

45. Assay nach Anspruch 43, wobei in Schritt (a) Zellen, bei denen der inaktive bzw. inaktivierbare Ras- oder Ras-ähnliche Signalweg ein Signalweg ist, der auf den Zellzyklus einwirkt und dessen Aktivierung für die Zellvermehrung essenziell ist, eingesetzt werden und Schritt (b) umfaßt, zu untersuchen, ob die Zellen unter den genannten Bedingungen vermehrungsfähig sind, wobei ein Nachweis der Vermehrungsfähigkeit der Zellen die Anwesenheit eines Liganden für den Ligandenbindungsabschnitt eines Rezeptors in der Probe anzeigt.

46. *in vivo*-Assay zum Nachweis der Anwesenheit eines Liganden für einen Ligandenbindungsabschnitt eines Rezeptors in einer Probe, die diesen möglicherweise enthält, gekennzeichnet durch die folgenden Schritte:

(a) Inkontaktbringen der Probe mit Zellen nach einem der Ansprüche 30 - 34 unter Bedingungen, bei denen bei Fehlen des Membranrezeptors der Ras- oder Ras-ähnliche Signalweg in der Zelle nicht aktiviert werden kann, wobei der Membranrezeptor den genannten Ligandenbindungsabschnitt enthält und das Effektorprotein oder -polypeptid, dessen Bindung an eine Membrankomponente von der fehlenden Bindung eines Liganden an den Ligandenbindungsabschnitt des Membranrezeptors, wie in Anspruch

1 definiert, abhängig ist, in der Lage ist, diesen Ras- oder Ras-ähnlichen Signalweg zu aktivieren,

(b) Untersuchen, ob eine Aktivierung des Ras- oder Ras-ähnlichen Signalwegs erfolgt ist,

(c) Untersuchen von Zellen, wie sie in Schritt (a) eingesetzt wurden, unter Bedingungen, bei denen bei Fehlen des Membranrezeptors der Ras- oder Ras-ähnliche Signalweg in der Zelle nicht aktiviert werden kann, in Abwesenheit der Probe auf Aktivierung des Ras- oder Ras-ähnlichen Signalwegs, wobei ein Nachweis der Aktivierung des Ras- oder Ras-ähnlichen Signalwegs in Abwesenheit der Probe und die Inaktivität des Ras- oder Ras-ähnlichen Signalwegs in Anwesenheit der Probe die Anwesenheit eines Liganden für den Ligandenbindungsabschnitt eines Rezeptors in der Probe anzeigt.

47. Screeningverfahren nach unbekannten Liganden eines bestimmten Rezeptors in einer Probe, dadurch gekennzeichnet, daß für das Screening ein Assayverfahren nach einem der Ansprüche 43 bis 46 eingesetzt wird.

48. *in vivo*-Assay zur quantitativen Bestimmung der Konzentration eines Liganden für einen Ligandenbindungsabschnitt eines Rezeptors in einer Probe, die diesen enthält, gekennzeichnet durch die folgenden Schritte:

(a) Inkontaktbringen eines Aliquots der Probe mit Zellen nach einem der Ansprüche 30 bis 34 unter Bedingungen, bei denen bei Fehlen des Membranrezeptors der Ras- oder Ras-ähnliche Signalweg in der Zelle nicht aktiviert werden kann, wobei der Membranrezeptor den genannten Ligandenbindungsabschnitt enthält und das Effektorprotein oder -polypeptid, dessen Bindung an eine Membrankomponente von der Bindung eines Liganden an den Ligandenbindungsabschnitt des Membranrezeptors, wie in Anspruch 1 definiert, abhängig ist, in der Lage ist, diesen Ras- oder Ras-ähnlichen Signalweg zu aktivieren,

(b) quantitatives Nachweisen des Ausmaßes der Aktivierung des Ras- oder Ras-ähnlichen Signalweges auf direktem oder indirektem Weg,

(c) Ermittlung der Konzentration des Liganden in der Probe durch Vergleich der ermittelten Aktivierungsausmaße mit entsprechenden Werten, die für bekannte Standardkonzentrationen des Liganden ermittelt wurden.

49. Assay nach Anspruch 48, dadurch gekennzeichnet, daß der quantitative Nachweis des Ausmaßes der Aktivierung des Ras- oder Ras-ähnlichen Signalweges in Schritt (b) indirekt erfolgt, indem die in den Zellen vorliegende Menge eines Transkriptions- oder Translationsprodukts eines Reportergens, dessen Expression nur aufgrund der infolge der Aktivierung des Ras- oder Ras-ähnlichen Signalweges erfolgenden Aktivierung eines spezifischen Transkriptionsfaktors erfolgt, zu einem bestimmten Zeitpunkt oder die Expressionsrate dieses Reportergens bezogen auf das Transkriptions- oder Translationsprodukt unter den genannten Bedingungen bestimmt wird, und in Schritt (c) die Ermittlung der Konzentration des Liganden in der Probe durch Vergleich der ermittelten Werte mit entsprechenden Werten, die für bekannte Standardkonzentrationen des Liganden ermittelt wurden, erfolgt.

50. Assay nach Anspruch 48, dadurch gekennzeichnet, daß in Schritt (a) Zellen, bei denen der inaktive bzw. inaktivierbare Ras- oder Ras-ähnliche Signalweg ein Signalweg ist, der auf den Zellzyklus einwirkt und dessen Aktivierung für die Zellvermehrung essenziell ist, eingesetzt werden und der quantitative Nachweis des Ausmaßes der Aktivierung des Ras- oder Ras-ähnlichen Signalweges in Schritt (b) indirekt erfolgt, indem die Vermehrung der Zellen zu einem festgelegten Zeitpunkt oder die Vermehrungsrate der Zellen unter den genannten Bedingungen bestimmt wird, und in Schritt (c) die Ermittlung der Konzentration des Liganden in der Probe durch Vergleich der ermittelten Werte mit entsprechenden Werten, die für bekannte Standardkonzentrationen des Liganden ermittelt wurden, erfolgt.

51. *in vivo*-Assay zum Nachweis, ob eine Verbindung in der Lage ist, eine Bindungsaktivität eines Ligandenbindungsabschnitts

eines Rezeptors gegenüber einem Ligand n zu verändern, gekennzeichnet durch die folgenden Schritte:

- (a) Inkontaktbringen des Liganden in Anwesenheit der Verbindung mit Zellen nach ein m der Ansprüche 30 bis 34 unter Bedingungen, bei denen bei Fehlen des Membranrezeptors der Ras- oder Ras-ähnliche Signalweg in den Zellen nicht aktiviert werden kann, wobei der Membranrezeptor den genannten Ligandenbindungsabschnitt enthält und das Effektorprotein oder -polypeptid, dessen Bindung an eine Membrankomponente von der Bindung oder, alternativ, der fehlenden Bindung eines Liganden an den Ligandenbindungsabschnitt des Membranrezeptors, wie in Anspruch 1 definiert, abhängig ist, in der Lage ist, diesen Ras- oder Ras-ähnlichen Signalweg zu aktivieren,
- (b) Untersuchen, ob und gegebenenfalls in welchem Ausmaß eine Aktivierung des Ras- oder Ras-ähnlichen Signalweges erfolgt ist,
- (c) Vergleichen des Untersuchungsergebnisses von Schritt (b) mit einem Untersuchungsergebnis, das bei Ausführen des Assay in Abwesenheit der Verbindung erhalten wird.

52. Assay nach Anspruch 51, dadurch gekennzeichnet, daß Schritt (b) umfaßt, die Aktivierung des Ras- oder Ras-ähnlichen Signalweges über eine gegebenenfalls erfolgende Expression eines Reportergens, die nur aufgrund der infolge der Aktivierung des Ras- oder Ras-ähnlichen Signalweges erfolgenden Aktivierung eines spezifischen Transkriptionsfaktors erfolgt, nachzuweisen und der gegebenenfalls erfolgende quantitative Nachweis des Ausmaßes der Aktivierung des Ras- oder Ras-ähnlichen Signalweges umfaßt, die in den Zellen vorliegende Menge an Transkriptions- oder Translationsprodukt des Reportergens zu einem bestimmten Zeitpunkt oder die Expressionsrate dieses Reportergens bezogen auf das Transkriptions- oder Translationsprodukt unter den genannten Bedingungen zu bestimmen, wobei in dem Falle, wo der Vergleich in Schritt (c) ergibt, daß in Anwesenheit der Verbindung eine stärkere Expression des Reportergens auftritt, eine Agonistenwirkung der Verbindung und in dem Falle, wo der Vergleich in Schritt (c) er-

gibt, daß in Anwesenheit der Verbindung eine geringere Expression des Reportergens auftritt, ein Antagonistenwirkung der Verbindung angezeigt wird.

53. Assay nach Anspruch 52, dadurch gekennzeichnet, daß r unter Bedingungen durchgeführt wird, bei denen keine Vermehrung der Zellen auftritt.

54. Assay nach Anspruch 51, wobei in Schritt (a) Zellen, bei denen der inaktive Ras- oder Ras-ähnliche Signalweg ein Signalweg ist, der auf den Zellzyklus einwirkt und dessen Aktivierung für die Zellvermehrung essenziell ist, eingesetzt werden und Schritt (b) umfaßt, zu untersuchen, ob und gegebenenfalls in welchem Ausmaß die Zellen unter den genannten Bedingungen vermehrungsfähig sind, wobei in dem Falle, wo der Vergleich in Schritt (c) ergibt, daß in Anwesenheit der Verbindung eine stärkere Zellvermehrung auftritt, eine Agonistenwirkung der Verbindung und in dem Falle, wo der Vergleich in Schritt (c) ergibt, daß in Anwesenheit der Verbindung eine geringere Zellvermehrung auftritt, eine Antagonistenwirkung der Verbindung angezeigt wird.

55. *in vivo*-Assay zum Nachweis, ob ein Polypeptid oder Protein eine Ligandenbindungsfunktion eines Rezeptors aufweist, gekennzeichnet durch die folgenden Schritte:

(a) Inkontaktbringen von Zellen nach einem der Ansprüche 30 bis 34 mit dem Liganden unter Bedingungen, bei denen bei Fehlen des Membranrezeptors, wie in Anspruch 1 definiert, ein Ras- oder Ras-ähnlicher Signalweg in den Zellen nicht aktiviert werden kann, wobei der Ligandenbindungsabschnitt des Membranrezeptors das zu untersuchende Polypeptid oder Protein umfaßt oder daraus besteht und wobei das Effektorprotein oder -polypeptid, dessen Bindung an eine Membrankomponente von der Bindung eines Liganden an den Ligandenbindungsabschnitt des Membranrezeptors abhängig ist, in der Lage ist, den inaktiven Ras- oder Ras-ähnlichen Signalweg zu aktivieren,

(b) Untersuchen, ob eine Aktivierung des Ras- oder Ras-ähnlichen Signalwegs erfolgt ist, wobei ein Nachweis der Aktivierung des Ras- oder Ras-ähnlichen Signalweges anzeigt, daß der Ligandenbindungsabschnitt des Membranrezeptors und dementsprechend das zu untersuchende Polypeptid oder Protein eine Ligandenbindungsfunktion eines Rezeptors aufweist.

56. Assayverfahren nach Anspruch 55, dadurch gekennzeichnet, daß der Ligandenbindungsabschnitt des in den Zellen enthaltenen Membranrezeptors von einem natürlich vorkommenden Rezeptorabschnitt durch Mutation abgeleitet ist.

57. Assay nach Anspruch 55 oder 56, wobei Schritt (b) umfaßt, die Aktivierung des Ras- oder Ras-ähnlichen Signalwegs über die gegebenenfalls erfolgende Expression eines Reportergens, die nur aufgrund der infolge der Aktivierung des Ras- oder Ras-ähnlichen Signalwegs erfolgenden Aktivierung eines spezifischen Transkriptionsfaktors erfolgt, nachzuweisen, wobei der Nachweis der Expression des Reportergens die Ligandenbindungsfunktion des Ligandenbindungsabschnitts des Membranrezeptors und dementsprechend des zu untersuchenden Polypeptids oder Proteins anzeigt.

58. Assay nach Anspruch 55 oder 56, wobei in Schritt (a) Zellen, bei denen der inaktive bzw. inaktivierbare Ras- oder Ras-ähnliche Signalweg ein Signalweg ist, der auf den Zellzyklus einwirkt und dessen Aktivierung für die Zellvermehrung essenziell ist, eingesetzt werden und Schritt (b) umfaßt, zu untersuchen, ob die Zellen unter den genannten Bedingungen vermehrungsfähig sind, wobei ein Nachweis der Vermehrungsfähigkeit der Zellen die Ligandenbindungsfunktion des Ligandenbindungsabschnitts des Membranrezeptors und dementsprechend des zu untersuchenden Polypeptids oder Proteins anzeigt.

59. *in vivo*-Assay zum Nachweis, ob ein Polypeptid oder Protein eine Ligandenbindungsfunktion eines Rezeptors aufweist, gekennzeichnet durch die folgenden Schritte:

- (a) Inkontaktbringen von Zellen nach einem der Ansprüche 30 bis 34 mit dem Liganden unter Bedingungen, bei denen bei Fehlen des Membranrezeptors, wie in Anspruch 1 definiert, ein Ras- oder Ras-ähnlicher Signalweg in den Zellen nicht aktiviert werden kann, wobei der Ligandenbindungsabschnitt des Membranrezeptors das zu untersuchende Polypeptid oder Protein umfaßt oder daraus besteht und wobei das Effektorprotein oder -polypeptid, dessen Bindung an eine Membrankomponente von der fehlenden Bindung eines Liganden an den Ligandenbindungsabschnitt des Membranrezeptors abhängig ist, in der Lage ist, den inaktiven Ras- oder Ras-ähnlichen Signalweg zu aktivieren,
- (b) Untersuchen, ob eine Aktivierung des Ras- oder Ras-ähnlichen Signalwegs erfolgt ist,
- (c) Untersuchen von Zellen, wie sie in Schritt (a) eingesetzt wurden, unter Bedingungen, bei denen bei Fehlen des Membranrezeptors der Ras- oder Ras-ähnliche Signalweg in der Zelle nicht aktiviert werden kann, in Abwesenheit von Ligand auf Aktivierung des Ras- oder Ras-ähnlichen Signalwegs, wobei ein Nachweis der Aktivierung des Ras- oder Ras-ähnlichen Signalwegs in Abwesenheit des Liganden und die Inaktivität des Ras- oder Ras-ähnlichen Signalwegs in Anwesenheit des Liganden anzeigt, daß der Ligandenbindungsabschnitt des Membranrezeptors und dementsprechend das zu untersuchende Polypeptid oder Protein eine Ligandenbindungsfunktion eines Rezeptors aufweist.

60. Kit zur Verwendung in einem Assay nach einem der Ansprüche 35 bis 54, welcher Zellen nach einem der Ansprüche 30 - 34 umfaßt.

~~61. Kit zur Verwendung in einem Assay nach einem der Ansprüche 35 bis 54, welcher mindestens zwei der folgenden Komponenten umfaßt.~~



SIPPEL, Albrecht, E. et al.

07. Februar 2001

NEUE PATENTANSPRÜCHE 61 - 70

61. Kit zur Verwendung in einem Assay nach einem der Ansprüche 35 bis 54, welcher die nachfolgend angegebenen Komponenten (a) und (b) sowie gegebenenfalls zusätzlich eine oder beide der nachfolgend angegebenen Komponenten (c) und (d) umfaßt:

(a) Zellen, in denen zumindest unter bestimmten Bedingungen ein Ras- oder Ras-ähnlicher Signalweg nicht aktiviert werden kann;

(b) einen Nukleinsäurevektor, in den eine DNA-Sequenz exprimierbar eingefügt ist, die einen Membranrezeptor, wie in Anspruch 1 definiert, kodiert, wobei das Effektorprotein oder -polypeptid, dessen Bindung an eine Membrankomponente von der Bindung oder, alternativ, fehlenden Bindung eines Liganden an den Ligandenbindungsabschnitt des Membranrezeptors abhängig ist, in der Lage ist, den inaktiven Ras- oder Ras-ähnlichen Signalweg in den unter (a) genannten Zellen zu aktivieren;

(c) einen Nukleinsäurevektor, in den eine DNA-Sequenz exprimierbar eingefügt ist, die das Effektorprotein oder -polypeptid, das im Falle einer Ligandenbindung oder, alternativ, fehlenden Ligandenbindung an den Ligandenbindungsabschnitt des Membranrezeptors an eine Komponente der Membran, gegebenenfalls über weitere Proteine oder Polypeptide (Adaptoren), binden kann und das in Form eines Fusionsproteins eines Effektorabschnitts mit einem Adaptorprotein oder -polypeptid, das die Bindung an die Komponente der Membran, gegebenenfalls über weitere Proteine oder Polypeptide (Adaptoren), ermöglicht, vorliegt, kodiert;

(d) einen Nukleinsäurevektor, in den eine DNA-Sequenz exprimierbar eingefügt ist, die mindestens ein Adaptorprotein, über welches das Effektorprotein oder -polypeptid bei Bindung oder, alternativ, fehlender Bindung eines Liganden an den Ligandenbindungsabschnitt des Membranrezeptors an eine Komponente der Membran binden kann, kodiert.

62. Kit zur Verwendung in einem Assay nach einem der Ansprüche 35 bis 54, welcher die nachfolgend angegebenen Komponenten (a) und (b) sowie gegebenenfalls zusätzlich eine oder beide der nachfolgend angegebenen Komponenten (c) und (d) umfaßt:

(a) Zellen, in denen zumindest unter bestimmten Bedingungen ein Ras- oder Ras-ähnlicher Signalweg nicht aktiviert werden kann;

(b) einen Nukleinsäurevektor, der in geeigneter Anordnung umfaßt:

- einen DNA-Abschnitt, der ein Membranlokalisierungssignal eines Membranrezeptors, wie in Anspruch 1 definiert, kodiert;
- einen DNA-Abschnitt, der einen Mediatorabschnitt eines Membranrezeptors, wie in Anspruch 1 definiert, kodiert; und
- eine geeignet angeordnete Insertionsstelle zur funktionalen Insertion einer DNA-Sequenz, die einen Ligandenbindungsabschnitt, wie in Anspruch 1 definiert, kodiert,

wobei nach Insertion einer DNA-Sequenz für den Ligandenbindungsabschnitt der Nukleinsäurevektor ein vollständiges exprimierbares Gen für einen Membranrezeptor, wie in Anspruch 1 definiert, umfaßt, wobei das Effektorprotein oder -polypeptid, dessen Bindung an eine Membrankomponente von der Bindung oder, alternativ, fehlenden Bindung eines Liganden an den Ligandenbindungsabschnitt des Membranrezeptors abhängig ist, in der Lage ist, den inaktiven Ras- oder Ras-ähnlichen Signalweg in den unter (a) genannten Zellen zu aktivieren;

(c) einen Nukleinsäurevektor, in den eine DNA-Sequenz exprimierbar eingefügt ist, die das Effektorprotein oder -polypeptid, das im Falle einer Ligandenbindung oder, alternativ, fehlenden Ligandenbindung an den Ligandenbindungsabschnitt des Membranrezeptors an eine Komponente der Membran, gegebenenfalls über weitere Proteine oder Polypeptide (Adaptoren), binden kann und das in Form eines Fusionsproteins eines Effektorabschnitts mit einem Adaptorprotein oder -polypeptid, das die Bindung an die Komponente der Membran, gegebenenfalls über weitere Proteine oder Polypeptide (Adaptoren), ermöglicht, vorliegt, kodiert;

(d) einen Nukleinsäurevektor, in den eine DNA-Sequenz exprimierbar eingefügt ist, die mindestens ein Adaptorprotein, über welches das Effektorprotein oder -polypeptid bei Bindung oder, alternativ, fehlender Bindung eines Liganden an den Ligandenbindungsabschnitt des Membranrezeptors an eine Komponente der Membran binden kann, kodiert.

63. Kit zur Verwendung in einem Assay nach einem der Ansprüche 55 bis 59, welcher Zellen nach einem der Ansprüche 30 - 34 umfaßt, wobei der darin enthaltene Membranrezeptor, wie in Anspruch 1 definiert, einen Ligandenbindungsabschnitt, umfassend ein oder bestehend aus einem Polypeptid oder Protein, bei dem eine Ligandenbindungsfunktion eines Rezeptors vermutet wird, umfaßt.

64. Kit zur Verwendung in einem Assay nach einem der Ansprüche 55 bis 59, welcher die nachfolgend angegebenen Komponenten (a) und (b) sowie gegebenenfalls zusätzlich eine oder beide der nachfolgend angegebenen Komponenten (c) und (d) umfaßt:

(a) Zellen, in denen zumindest unter bestimmten Bedingungen ein Ras- oder Ras-ähnlicher Signalweg nicht aktiviert werden kann;

(b) einen Nukleinsäurevektor, in den eine DNA-Sequenz exprimierbar eingefügt ist, die einen Membranrezeptor, wie in Anspruch 1 definiert, kodiert, wobei der Ligandenbindungsabschnitt des Membranrezeptors ein Polypeptid oder Protein, bei dem eine Ligandenbindungsfunktion eines Rezeptors vermutet wird, umfaßt oder daraus gebildet wird und das Effektorprotein oder -polypeptid, dessen Bindung an eine Membrankomponente von der Bindung oder, alternativ, fehlenden Bindung eines Liganden an den Ligandenbindungsabschnitt des Membranrezeptors abhängig ist, in der Lage ist, den inaktiven Ras- oder Ras-ähnlichen Signalweg in den unter (a) genannten Zellen zu aktivieren;

(c) einen Nukleinsäurevektor, in den eine DNA-Sequenz exprimierbar eingefügt ist, die das Effektorprotein oder -polypeptid, das im Falle einer Ligandenbindung oder, alternativ, fehlenden Ligandenbindung an den Ligandenbindungsabschnitt des

Membranrezeptors an eine Komponente der Membran, gegebenenfalls über weitere Proteine oder Polypeptide (Adaptoren), binden kann und das in Form eines Fusionsproteins eines Effektorabschnitts mit einem Adaptorprotein oder -polypeptid, das die Bindung an die Komponente der Membran, gegebenenfalls über weitere Proteine oder Polypeptide (Adaptoren), ermöglicht, vorliegt, kodiert;

(d) einen Nukleinsäurevektor, in den eine DNA-Sequenz exprimierbar eingefügt ist, die mindestens ein Adaptorprotein, über welches das Effektorprotein oder -polypeptid bei Bindung oder, alternativ, fehlender Bindung eines Liganden an den Ligandenbindungsabschnitt des Membranrezeptors an eine Komponente der Membran binden kann, kodiert.

65. Kit zur Verwendung in einem Assay nach einem der Ansprüche 55 bis 59, welcher die nachfolgend angegebenen Komponenten (a) und (b) sowie gegebenenfalls zusätzlich eine oder beide der nachfolgend angegebenen Komponenten (c) und (d) umfaßt:

(a) Zellen, in denen zumindest unter bestimmten Bedingungen ein Ras- oder Ras-ähnlicher Signalweg nicht aktiviert werden kann;

(b) einen Nukleinsäurevektor, der in geeigneter Anordnung umfaßt:

- einen DNA-Abschnitt, der ein Membranlokalisierungssignal eines Membranrezeptors, wie in Anspruch 1 definiert, kodiert;
- einen DNA-Abschnitt, der einen Mediatorabschnitt eines Membranrezeptors, wie in Anspruch 1 definiert, kodiert; und
- eine geeignet angeordnete Insertionsstelle zur funktionalen Insertion einer DNA-Sequenz, die ein Polypeptid oder Protein, bei dem eine Ligandenbindungsfunktion eines Rezeptors vermutet wird, kodiert,

wobei nach Insertion einer DNA-Sequenz für den Ligandenbindungsabschnitt der Nukleinsäurevektor ein vollständiges exprimierbares Gen für einen Membranrezeptor umfaßt, wobei das Effektorprotein oder -polypeptid, dessen Bindung an eine Membrankomponente von der Bindung oder, alternativ, fehlenden Bindung eines Liganden an den aus dem Polypeptid oder Protein,

bei dem eine Ligandenbindungsfunktion eines Rezeptors vermutet wird, gebildeten Ligandenbindungsabschnitt des Membranrezeptors abhängig ist, in der Lage ist, den inaktiven Ras- oder Ras-ähnlichen Signalweg in den unter (a) genannten Zellen zu aktivieren;

(c) einen Nukleinsäurevektor, in den eine DNA-Sequenz exprimierbar eingefügt ist, die das Effektorprotein oder -polypeptid, das im Falle einer Ligandenbindung oder, alternativ, fehlenden Ligandenbindung an den Ligandenbindungsabschnitt des Membranrezeptors an eine Komponente der Membran, gegebenenfalls über weitere Proteine oder Polypeptide (Adaptoren), binden kann und das in Form eines Fusionsproteins eines Effektorabschnitts mit einem Adaptorprotein oder -polypeptid, das die Bindung an die Komponente der Membran, gegebenenfalls über weitere Proteine oder Polypeptide (Adaptoren), ermöglicht, vorliegt, kodiert;

(d) einen Nukleinsäurevektor, in den eine DNA-Sequenz exprimierbar eingefügt ist, die mindestens ein Adaptorprotein, über welches das Effektorprotein oder -polypeptid bei Bindung oder, alternativ, fehlender Bindung eines Liganden an den Ligandenbindungsabschnitt des Membranrezeptors an eine Komponente der Membran binden kann, kodiert.

66. Kit nach einem der Ansprüche 60 bis 65, in welchem die Zellen zusätzlich ein Konstrukt enthalten, umfassend eine Bindungsstelle für einen Transkriptionsfaktor, dessen Aktivierung infolge einer Aktivierung eines speziellen Ras- oder Ras-ähnlichen Signalwegs, dessen Aktivierung durch den Assay nachgewiesen werden soll, erfolgt, einen Minimalpromotor und ein damit funktional verknüpftes Reportergen, wobei der Minimalpromotor infolge einer Bindung des aktivierten Transkriptionsfaktors an seine Bindungsstelle aktiviert wird.

67. Kit nach einem der Ansprüche 60 bis 65, dadurch gekennzeichnet, daß er zusätzlich einen Transformations- oder Transfektionsvektor mit einem Konstrukt, umfassend eine Bindungsstelle für einen Transkriptionsfaktor, dessen Aktivierung in-

folge einer Aktivierung eines speziellen Ras- oder Ras-ähnlichen Signalwegs, dessen Aktivierung durch den Assay nachgewiesen werden soll, erfolgt, einen Minimalpromotor und ein damit funktional verknüpftes Reportergen, wobei der Minimalpromotor infolge einer Bindung des aktivierten Transkriptionsfaktors an seine Bindungsstelle aktiviert wird, enthält.

68. Kit nach einem der Ansprüche 60 bis 65, dadurch gekennzeichnet, daß er zusätzlich einen Transformations- oder Transfektionsvektor mit einem Konstrukt, umfassend eine Bindungsstelle für einen Transkriptionsfaktor, dessen Aktivierung infolge einer Aktivierung eines speziellen Ras- oder Ras-ähnlichen Signalwegs, dessen Aktivierung durch den Assay nachgewiesen werden soll, erfolgt, einen Minimalpromotor und eine für eine durch den Minimalpromotor gesteuerte Expression geeignet angeordnete Insertionsstelle für eine Insertion eines Reportergens, wobei der Minimalpromotor infolge einer Bindung des aktivierten Transkriptionsfaktors an seine Bindungsstelle aktiviert wird, enthält.

69. Kit nach einem der Ansprüche 60 bis 68, welcher die Zellen immobilisiert oder in Mikrokammern eingeschlossen auf einem festen Träger, insbesondere auf Biochips enthält.

70. Verfahren zur Identifizierung von Polypeptiden oder Proteinen, insbesondere Rezeptoren, die eine Ligandenbindungsfunktion eines Rezeptors aufweisen, welches umfaßt:

- eine Zelle nach Anspruch 1 mit einem Membranrezeptor, der die in Anspruch 1 beschriebenen Merkmale aufweist und die Gesamtheit eines derartigen Polypeptids oder Proteins oder einen Teil eines derartigen Polypeptids oder Proteins, der mutmaßlich die für die Ligandenbindungsfunktion essentiellen Sequenzabschnitte enthält, umfaßt, herzustellen und
- mittels dieser Zelle ein *in vivo*-Assayverfahren zum Nachweis, ob ein Polypeptid oder Protein eine Ligandenbindungsfunktion eines Rezeptors aufweist, nach einem der Ansprüche 55 bis 59 auszuführen.

09/869709  
Translation  
5060

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

10

Applicant's or agent's file reference EP-1006/PCT	<b>FOR FURTHER ACTION</b> See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/EP99/10460	International filing date (day/month/year) 29 December 1999 (29.12.99)	Priority date (day/month/year) 30 December 1998 (30.12.98)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC G01N 33/566, C12N 5/10, C12Q 1/02		
Applicant SIPPEL, Albrecht, E.		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.
2. This REPORT consists of a total of <u>6</u> sheets, including this cover sheet.  <input checked="" type="checkbox"/> This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).  These annexes consist of a total of <u>22</u> sheets.
3. This report contains indications relating to the following items:  I <input checked="" type="checkbox"/> Basis of the report II <input type="checkbox"/> Priority III <input type="checkbox"/> Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability IV <input type="checkbox"/> Lack of unity of invention V <input checked="" type="checkbox"/> Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement VI <input type="checkbox"/> Certain documents cited VII <input checked="" type="checkbox"/> Certain defects in the international application VIII <input checked="" type="checkbox"/> Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 26 July 2000 (26.07.00)	Date of completion of this report 09 March 2001 (09.03.2001)
Name and mailing address of the IPEA/EP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

# INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP99/10460

## I. Basis of the report

1. This report has been drawn on the basis of *(Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments.)*:

- ☐ the international application as originally filed.
- ☒ the description, pages 1-73, as originally filed,  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the demand,  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_,  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_.
- ☒ the claims, Nos. 1-58, as originally filed,  
 Nos. \_\_\_\_\_, as amended under Article 19,  
 Nos. \_\_\_\_\_, filed with the demand,  
 Nos. 61-70, filed with the letter of 07 February 2001 (07.02.2001),  
 Nos. 59,60, filed with the letter of 21 February 2001 (21.02.2001).
- ☒ the drawings, sheets/fig 1/4-4/4, as originally filed,  
 sheets/fig \_\_\_\_\_, filed with the demand,  
 sheets/fig \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_,  
 sheets/fig \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_.

2. The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages \_\_\_\_\_
- ☐ the claims, Nos. \_\_\_\_\_
- ☐ the drawings, sheets/fig \_\_\_\_\_

3. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).

4. Additional observations, if necessary:



**V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement****1. Statement**

Novelty (N)	Claims	1-70	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims	1-70	YES
	Claims		NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-70	YES
	Claims		NO

**2. Citations and explanations**

Reference is made to the following documents:

D1: EP-A-0 863 214

D2: WO-A-94/29458

D3: WO-A-98/26054.

1. The prior art indicated in the international search report neither previously describes nor suggests recombinant cells which express firstly a Ras signal-activating effector protein in the form of a fusion construct, i.e. bonded to an adaptor protein which mediates the intracellular bond to a membrane receptor, and, furthermore express the corresponding membrane receptor.

The subject matter of Claims 1-34 and Claims 60 and 63 is therefore considered to be novel and inventive (PCT Article 33(2) and (3)).

Screening methods which are based on the use of cell lines of this type permit identification of random receptor (ant)agonists on the basis of the detection of Ras activation.

Consequently, the processes as per Claims 35-59 and 70 are also considered to be novel and inventive (PCT Article 33(2) and (3)).

2. Independent Claims 61, 62, 64 and 65 cover different embodiments of test kits, the essential components (a) and (b) of which have not been previously described or suggested by the aforementioned prior art.

Claims 61, 62 and 64-69 therefore likewise meet the requirements of PCT Article 33(2) and (3) (see, however, Box VIII, point 6).

**VII. Certain defects in the international application**

The following defects in the form or contents of the international application have been noted:

1. Contrary to the requirements of PCT Rule 5.1(a)(iii), the description has not been brought into line with the amended claims.

## VIII. Certain observations on the international application

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

1. Claims 35, 38, 42, 43, 46, 47, 48, 51, 55, 56, 59, 70 and 61, 62, 64 and 65 have been drafted as separate independent claims; however, they appear to relate to the selfsame subject matter and differ from each other only by deviating definitions of the subject matter for which protection is sought or they contain all the features of a preceding claim in each case (i.e. they appear to be dependent in terms of content).

Consequently, the claims are not concise. Moreover, the claims as a whole lack clarity since owing to the large number of independent claims it is difficult, if not impossible, to establish the subject matter for which protection is sought, and thus a third party cannot ascertain the scope of protection without unreasonable effort.

For the aforementioned reason, the set of claims does not meet the requirements of PCT Article 6.

5. The independent claims are unclear with respect to the wording "Ras-like signal path". It is not possible to derive from the claims which criteria in terms of functional or structural common features substantiate Ras-similarity, and thus which proteins are considered to be suitable effector proteins as defined in the wording of the claims. There is a lack of clarity in particular in that according to the description - see, for example, page 40, lines 5-12 - the expression "Ras-like" appears to be

## VIII. Certain observations on the international application

interpreted in a manner which is far more general than that accepted by experts in this field. An interpretation which deviates from the definition accepted by experts in this field should be included in the claim for clarification purposes; see PCT Guidelines, Section IV; Ch. III-4.5 and Ch. III-4.2.

6. Claims 61, 62, 64 and 65 cover test kits which contain merely the components (a) and (b) as essential constituents.

According to the amended Claim 1, the aspect which is essential to the invention consists in the use of a "hybrid effector protein" in the form of a fusion construct that contains a Ras effector and an adaptor protein for mediating the bond of the effector to the membrane receptor. Component (c) should therefore be regarded as an essential constituent of a test kit specifically adapted to the claimed process.

Since independent Claims 61, 62, 64 and 65 indicate this component merely as an optional constituent, they do not meet the requirements of PCT Article 6 in combination with PCT Rule 6.3(b) that each independent claim must contain all technical features which are essential for the definition of the invention.

# PCT

## INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

(Artikel 18 sowie Regeln 43 und 44 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts <b>EP-1006/PCT</b>	<b>WEITERES VORGEHEN</b> siehe Mitteilung über die Übermittlung des internationalen Recherchenberichts (Formblatt PCT/ISA/220) sowie, soweit zutreffend, nachstehender Punkt 5	
Internationales Aktenzeichen <b>PCT/EP 99/ 10460</b>	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) <b>29/12/1999</b>	(Frühestes) Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) <b>30/12/1998</b>
Anmelder <b>SIPPEL, Albrecht, E. et al.</b>		

Dieser Internationale Recherchenbericht wurde von der Internationalen Recherchenbehörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 18 übermittelt. Eine Kopie wird dem Internationalen Büro übermittelt.

Dieser Internationale Recherchenbericht umfaßt insgesamt 5 Blätter.

☒ Darüber hinaus liegt ihm jeweils eine Kopie der in diesem Bericht genannten Unterlagen zum Stand der Technik bei.

### 1. Grundlage des Berichts

a. Hinsichtlich der **Sprache** ist die Internationale Recherche auf der Grundlage der Internationalen Anmeldung in der Sprache durchgeführt worden, in der sie eingereicht wurde, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

☐ Die Internationale Recherche ist auf der Grundlage einer bei der Behörde eingereichten Übersetzung der Internationalen Anmeldung (Regel 23.1 b)) durchgeführt worden.

b. Hinsichtlich der in der Internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die Internationale Recherche auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das

☐ in der Internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.

☐ zusammen mit der Internationalen Anmeldung in computerisierter Form eingereicht worden ist.

☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.

☐ bei der Behörde nachträglich in computerisierter Form eingereicht worden ist.

☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der Internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.

☐ Die Erklärung, daß die in computerisierter Form erfaßten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

2. ☒ Bestimmte Ansprüche haben sich als nicht recherchierbar erwiesen (siehe Feld I).

3. ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung (siehe Feld II).

### 4. Hinsichtlich der Bezeichnung der Erfindung

☒ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

☐ wurde der Wortlaut von der Behörde wie folgt festgesetzt:

### 5. Hinsichtlich der Zusammenfassung

☒ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

☐ wurde der Wortlaut nach Regel 38.2b) in der in Feld III angegebenen Fassung von der Behörde festgesetzt. Der Anmelder kann der Behörde innerhalb eines Monats nach dem Datum der Absendung dieses Internationalen Recherchenberichts eine Stellungnahme vorlegen.

6. Folgende Abbildung der Zeichnungen ist mit der Zusammenfassung zu veröffentlichen: Abb. Nr. \_\_\_\_\_

☐ wie vom Anmelder vorgeschlagen

☐ weil der Anmelder selbst keine Abbildung vorgeschlagen hat.

☐ weil diese Abbildung die Erfindung besser kennzeichnet.

☒ keine der Abb.

**Feld I Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)**

Gemäß Artikel 17(2)a) wird aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1. ☐ Ansprüche Nr.  
weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich
  
2. ☐ Ansprüche Nr.  
weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich
  
3. ☐ Ansprüche Nr.  
weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

**Feld II Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 3 auf Blatt 1)**

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

1. ☐ Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche.
  
2. ☐ Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchengebühr gerechtfertigt hätte, hat die Behörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.
  
3. ☐ Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr.
  
4. ☐ Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:

Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs

- ☐ Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.
- ☐ Die Zahlung zusätzlicher Recherchengebühren erfolgte ohne Widerspruch.

## WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Fortsetzung von Feld I.2

Ansprüche Nr.: 72-74, 78, 79

Die geltenden Patentansprüche 72-74, 78, 79 beziehen sich auf Produkte, jeweils charakterisiert durch eine erstrebenswerte Eigenheit oder Eigenschaft, nämlich dass sie mittels eines de Assayverfahren nach einem der Ansprüche 35 bis 47 und 51 bis 59 identifiziert werden können. Die Patentansprüche umfassen daher alle Produkte, die diese Eigenheit oder Eigenschaft aufweisen, wohingegen die Patentanmeldung kein Stütze durch die Beschreibung im Sinne von Art. 5 PCT für solcher Produkte liefert. Im vorliegenden Fall fehlen den Patentansprüchen die entsprechende Stütze bzw. der Patentanmeldung die nötige Offenbarung in einem solchen Maße, daß eine sinnvolle Recherche über den gesamten erstrebten Schutzbereich unmöglich erscheint. Desungeachtet fehlt den Patentansprüchen auch die in Art. 6 PCT geforderte Klarheit, nachdem in ihnen versucht wird, die Produkte über das jeweils erstrebte Ergebnis zu definieren. Auch dieser Mangel an Klarheit ist dergestalt, daß er eine sinnvolle Recherche über den gesamten erstrebten Schutzbereich unmöglich macht. Daher wurde die Recherche auf die Teile der Patentansprüche gerichtet, welche im o.a. Sinne als klar, gestützt oder offenbart erscheinen, nämlich die Teile betreffend die Zelle und Assayverfahren.

Der Anmelder wird darauf hingewiesen, daß Patentansprüche, oder Teile von Patentansprüchen, auf Erfindungen, für die kein internationaler Recherchenbericht erstellt wurde, normalerweise nicht Gegenstand einer internationalen vorläufigen Prüfung sein können (Regel 66.1(e) PCT). In seiner Eigenschaft als mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde wird das EPA also in der Regel keine vorläufige Prüfung für Gegenstände durchführen, zu denen keine Recherche vorliegt. Dies gilt auch für den Fall, daß die Patentansprüche nach Erhalt des internationalen Recherchenberichtes geändert wurden (Art. 19 PCT), oder für den Fall, daß der Anmelder im Zuge des Verfahrens gemäß Kapitel II PCT neue Patentanprüche vorlegt.



## A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 G01N33/566 C12N5/10 C12Q1/02

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

## B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationsymbole)

IPK 7 G01N C12N C12Q C07K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der Internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

## C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
P, X	WO 99 02675 A (COMMUNI DIDIER ;EUROSCREEN S A (BE); BOEYNAEMS JEAN MARIE (BE)) 21. Januar 1999 (1999-01-21)  Seite 16, Zeile 12 -Seite 17 ----	1,6,11, 18,26, 27,30, 35, 37-48, 50-56, 58-67, 75,77
Y	EP 0 863 214 A (SMITHKLINE BEECHAM CORP) 9. September 1998 (1998-09-09) Ansprüche ----	36,49, 57,68
A	WO 97 46688 A (LUDWIG INST CANCER RES ;VANHASEBROECK BART (GB); WATERFIELD MICHAEL) 11. Dezember 1997 (1997-12-11) Seite 27 ----- -/-	1-71,75, 76

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen☒ Siehe Anhang Patentfamilie

\* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" Älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"Z" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der Internationalen Recherche

18. Mai 2000

Absenddatum des Internationalen Recherchenberichts

30/05/2000

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde  
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Hoekstra, S

## C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 94 29458 A (AMGEN INC) 22. Dezember 1994 (1994-12-22)	1,7-11, 18,26, 27,30, 35, 37-48, 50-56, 58-67, 75,77
Y	das ganze Dokument Beispiel 4	36,49, 57,68
X	WO 95 23231 A (MAX PLANCK GESELLSCHAFT) 31. August 1995 (1995-08-31)	1,6,11, 18,26, 27,30, 35, 37-48, 50-56, 58-67, 75,77
X	das ganze Dokument	
X	WO 98 26054 A (SCHLESSINGER JOSEPH ;LEV SIMMA (US); SUGEN INC (US); UNIV NEW YORK) 18. Juni 1998 (1998-06-18)	1-3,6, 11,18, 26,27, 30,35, 37-48, 50-56, 58-67, 75,77
A	Seite 3, Zeile 15 WO 97 48820 A (AURORA BIOSCIENCES CORP) 24. Dezember 1997 (1997-12-24) das ganze Dokument	12
X	WO 93 07294 A (US GOVERNMENT) 15. April 1993 (1993-04-15)	1,7-11, 18,26, 27,30, 35-68, 75,77
	das ganze Dokument	

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 99/10460

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9902675	A	21-01-1999	EP 0923644 A	23-06-1999
EP 0863214	A	09-09-1998	CA 2224063 A	25-08-1998
			JP 11000182 A	06-01-1999
WO 9746688	A	11-12-1997	AU 2970597 A	05-01-1998
			CN 1220701 A	23-06-1999
			EP 0914448 A	12-05-1999
WO 9429458	A	22-12-1994	AU 683073 B	30-10-1997
			AU 7203694 A	03-01-1995
			CA 2164623 A	22-12-1994
			EP 0705341 A	10-04-1996
			JP 8508889 T	24-09-1996
			US 5521295 A	28-05-1996
WO 9523231	A	31-08-1995	AU 1812595 A	11-09-1995
			US 5856111 A	05-01-1999
WO 9826054	A	18-06-1998	AU 5596998 A	03-07-1998
			EP 0948604 A	13-10-1999
WO 9748820	A	24-12-1997	AU 3572897 A	07-01-1998
			US 6004808 A	21-12-1999
WO 9307294	A	15-04-1993	AU 655850 B	12-01-1995
			AU 2768192 A	03-05-1993
			CA 2120518 A,C	15-04-1993
			EP 0668930 A	30-08-1995
			JP 6511386 T	22-12-1994
			US 5532157 A	02-07-1996
			US 5783402 A	21-07-1998